

microRNA 快速提取试剂盒

microRNA Rapid Isolation Kit

产品编号	产品组成	规格	保存条件
FRN-04	Lysis Buffer for miRNA (microRNA 提取裂解液)	30 mL	4 °C
	Wash Buffer E (漂洗液)	20 mL	4 °C
	Elution Buffer R (洗脱液)	10 mL	4 °C
	RNA 纯化柱	100 套	4 °C
	说明书	1 份	

一、运输与存储。

本产品低温运输，4 °C保存，有效期 1 年。

二、注意事项（实验前阅读）。

1. 本产品提取的 RNA 中，含有小 RNA (5 s RNA)，几乎不含 28 s 和 18 s 的 RNA。
2. 裂解液如果发生沉淀现象，只需利用 37 °C 水浴加热 5-10 min，即可恢复澄清。
3. 请使用 RNase-free 的器具与耗材，如 EP 管，枪尖等。
4. 整个实验过程需要低温操作。
5. 请使用新鲜的样品或-80 °C保存的样品。
6. 为了您的健康，实验过程中请穿好实验服、佩戴手套和安全眼镜。

三、产品简介。

microRNA 快速提取试剂盒是一款专门用于提取 microRNA 等小 RNA (5 s RNA) 的系统，可以快速的从细胞和组织中提取高纯度的 microRNA，同时去除 28 s 和 18 s RNA，用于反转录、测序等生物学实验。

四、特点与优势。

1. 操作简单，可以快速（30 min）完成多个样品中 microRNA 的提取
2. 高效富集小 RNA（5 S RNA， 包含 microRNA），显著提高 microRNA 产量。
3. 适用于 200 nt 以下的其他小 RNA 的提取，如 siRNA，snRNA 和 snoRNA 等。
4. 有效清除 gDNA 和大 RNA（28 S 和 18 S RNA），提高 microRNA 的纯度。
5. 适用于细胞、细菌和动物组织中 microRNA 的提取。

五、自备试剂与耗材。

无水乙醇，70%乙醇，RNase-free EP 管（1.5 mL）和枪尖。

六、使用说明。

1. 试剂配制。在 Wash Buffer E（漂洗液）中加入 80 mL 无水乙醇，混匀，制备漂洗液。
2. 细胞和组织裂解。
 - 1) 细胞裂解。
 - a) 贴壁细胞裂解。胰酶消化法收集细胞并计数，按照细胞数量添加一定体积的裂解液。或根据细胞培养皿大小，直接加入裂解液，利用移液器吹打，混匀，转移到 EP 管中，室温裂解 3-5 min。
 - b) 悬浮细胞裂解。离心收集悬浮细胞并计数，按照细胞数目添加一定体积的裂解液，混匀，室温裂解 3-5 min。

表 1. 裂解液及添加乙醇体积统计表（细胞）

细胞数量	裂解液体积（ μL ）	70%乙醇体积（ μL ）	无水乙醇体积（ μL ）
少于 5×10^6	350	350	450
$5-10 \times 10^6$	600	600	770

细胞培养皿直径（mm）	裂解液体积（ μL ）	70%乙醇体积（ μL ）	无水乙醇体积（ μL ）
35	350	350	450
60	600	600	770

- 2) 动物组织裂解。将剪切好的组织块加入裂解液中，利用手持式匀浆器破碎组织，室温裂解 3-5 min，再 $12,000 \times g$ ，4 °C 离心 3 min，弃沉淀，上清转移至新的 EP 管，即为组织裂解液。

表 2. 裂解液及添加乙醇体积统计表（组织）

组织块重量 (mg)	裂解液体积 (μL)	70%乙醇体积(μL)	无水乙醇体积 (μL)
≤10	350	350	450
10-20	600	600	770

3. 细胞或组织裂解液中加入等体积的 70%乙醇（详情见表 1，表 2），混匀，转入 RNA 纯化柱。
4. $12,000\times g$ ，4 °C 离心 30 sec，弃纯化柱（柱上吸附了 28 s 和 18 s RNA，若需要这两种类型的 RNA，用 **Elution Buffer R** 洗脱即可），收集滤液（含有 microRNA）。
5. 加入滤液 0.65 倍体积的无水乙醇（详情见表 1，表 2），混匀。
6. 取 600 μL 混合液加入新的 RNA 纯化柱中， $12,000\times g$ ，4 °C 离心 30 sec，弃滤液。
7. 将剩余的混合液加入对应的 RNA 纯化柱中， $12,000\times g$ ，4 °C 离心 30 sec，弃滤液。
8. 向 RNA 纯化柱中加入 500 μL Wash Buffer E（漂洗液，注意是否加入乙醇）， $12,000\times g$ ，4 °C 离心 30 sec，弃滤液。
9. $12,000\times g$ ，4 °C 离心 2 min，弃滤液。
10. 将 RNA 纯化柱插入新的 RNase-free EP 管中，向柱中央滴加 50-100 μL Elution Buffer R（洗脱液）或 RNase-free ddH₂O，室温静置 2 min。
11. $12,000\times g$ ，4 °C 离心 2 min，得到 microRNA 溶液。
12. 立即用于反转录实验，或保存于 -80 °C 冰箱。

七、提取 miRNA 鉴定。

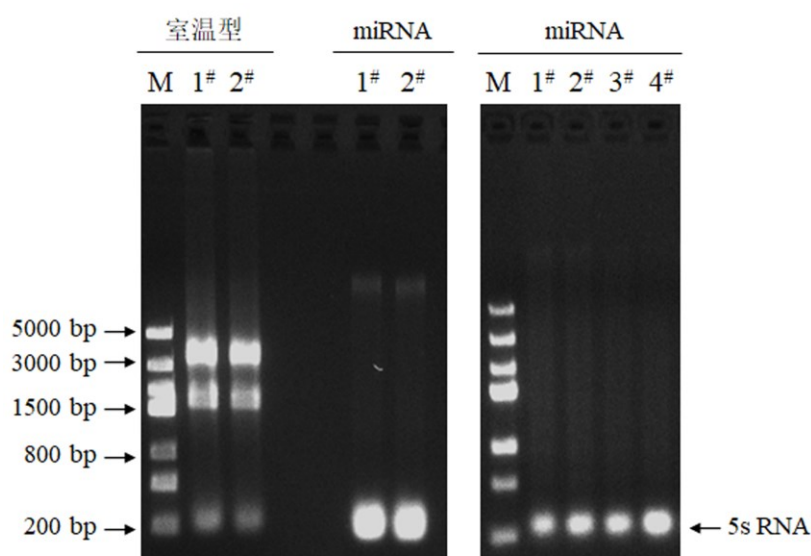


图 1. miRNA 提取效果鉴定。

八、常见问题与分析。

问题	可能原因	解决方案
microRNA 降解	样品反复冻融或保存不当	尽量使用新鲜的组织或细胞样品，避免反复冻融。
	耗材存在 RNA 酶污染。	选择使用 RNase-free 的耗材。
	没有在低温环境下操作。	请在冰上或冰水混合物中提取 miRNA。
	细胞消化过度。	收集细胞时缩短胰酶消化时间。
	RNA 洗脱液含有 RNase	选择使用 RNase-free 的洗脱液或 ddH ₂ O。
	保存条件不当。	提取的 miRNA 应保存在 -80 °C，而不是 -20 °C。
microRNA 浓度低	样品量过低。	增加样品量。
	裂解不充分。	充分混匀，室温静置 5 min，或增加裂解液用量。
	洗脱液体积偏小。	洗脱体积不小于 50 µl。
	洗脱液未滴加到吸附膜上。	洗脱液滴加到纯化柱中央的吸附膜上。
	洗脱液孵育时间偏短。	洗脱液加入纯化柱后，室温静置 5 min，再洗脱。